

Fiche Technique

**ABSORBANTS BIOSORB®****I. Isolement des anticorps IgM et IgA par une séparation des IgG à l'aide de l'antisérum anti-humain IgG. Ce réactif convient à tous les tests pour la détection des anticorps du type IgM et IgA:**

Biosorb® Absorbant IgG, 48 Séparations, Réf. 90-1048

Biosorb® Absorbant IgG, 120 Séparations, Réf. 90-1120

II. Séparation des anticorps spécifiques des antigènes du groupe des spirochètes à l'aide d'un homogénisate de Treponema phagedenis. Ce réactif convient aux tests pour la détection de Borrelia et de Leptospira:

Biosorb® Absorbant de Reiter, Réf. 36-6105

INTRODUCTION**Isolement des IgM et IgA**

Lors de la présence des anticorps IgG, la mise en évidence des anticorps IgM/IgA peut être perturbée. Au cas où la concentration des anticorps IgG excède la concentration des IgM/IgA (ce qui est souvent le cas), les anticorps IgG peuvent inhiber compétitivement et stériquement la liaison des IgM et IgA à l'antigène. Par conséquent, le test pour la détection des IgM et/ou IgA risque de s'avérer faussement négatif.

Par contre, la présence des facteurs rhumatoïdes IgM peut entraîner des résultats faussement positifs lors de la détection des IgM. Avec les facteurs rhumatoïdes IgM, il s'agit en effet des autoanticorps de la classe IgM qui se dirigent contre les propres anticorps de la classe IgG de l'organisme. Par conséquent, si, lors de la préparation du test, des anticorps IgG d'un sérum se sont spécifiquement liés à l'antigène, des facteurs rhumatoïdes IgM également présents dans le sérum peuvent se fixer aux IgG déjà liés à l'antigène en formant des complexes immuns. Dans ce cas, les facteurs rhumatoïdes IgM présents dans ces complexes immuns seront détectés par des conjugués spécifiques des anticorps de la classe IgM et le test sera alors positif. De la même manière, la recherche des IgA peut être perturbée lors de la présence des facteurs rhumatoïdes du type IgA.

L'élimination des anticorps IgG des échantillons lors de la recherche des IgM et IgA permet d'éviter les perturbations décrites ci-dessus. Dans ce but, une possibilité simple et très efficace consiste en le traitement des échantillons par un antisérum anti-humain IgG (**Biosorb® Absorbant IgG, réf. 90-1048 et 90-1120**). Lors de ce traitement, les molécules IgG humains seront absorbées dans des complexes immuns. De façon indirecte, les facteurs rhumatoïdes IgM déjà attachés aux IgG libres des échantillons ou s'attachant aux IgG des complexes immuns sont également inactivés ou enlevés de l'échantillon.

La sérologie des spirochètes

La sérologie des pathogènes appartenants au groupe des spirochètes (entre autres Treponema pallidum, Borrelia burgdorferi, Leptospira interrogans) est complexe. En effet, lors de la préparation d'un test avec un antigène hétérologue du groupe des spirochètes, les sérums des patients infectés par un seul de ces pathogènes ou par des organismes apathogènes de la famille des spirochètes montrent des réactions croisées (même aux titres élevés). Par ailleurs, les antigènes (épitopes) de spirochètes responsables de ces réactions croisées possèdent souvent une immunogénité importante et, par conséquent, les anticorps dirigés contre ces antigènes sont souvent formés dans des concentrations élevées. Pour cette raison, la détection de ces pathogènes uniquement à base de méthodes sérologiques est souvent inefficace, voire impossible.

Pour une meilleure spécificité de ces tests, il est recommandé de prétraiter les échantillons de patients par un absorbant (**Biosorb® Absorbant de Reiter, Réf. 36-6105** pour la recherche des IgG). Pourtant, il faut tenir compte du fait que ce prétraitement aux spirochètes de Reiter réduit la sensibilité de tous les tests (de n'importe quelle méthode) pour la détection des anticorps dirigés contre les spirochètes.

CONTENU ET PRINCIPE DU TEST**Biosorb® Absorbant IgG:**

Isolement des anticorps IgM et IgA à l'aide de l'antisérum anti-humain IgG. Après la séparation des IgG, la dilution finale de la fraction IgM (IgA) du sérum est de 1:5. Le réactif convient aux séparations IgG/IgM et IgG/IgA lors de la préparation des échantillons pour des analyses de toutes les méthodes sérologiques (test d'IFI, tests d'ELISA, Western Blot, etc.).

Réf. 90-1048, 48 séparations maxi, prêt à l'emploi; 2 ml.**Réf. 90-1120**, 120 séparations maxi, prêt à l'emploi; 5 ml.

Lors du traitement des sérums de patients par l'Absorbant Biosorb® IgG, les molécules IgG humains des échantillons sont absorbés dans des complexes immuns à l'aide de l'antisérum anti-humain IgG. A ce sujet, les molécules IgG présentes dans ces complexes humains ne peuvent plus perturber la réaction des anticorps IgM et IgA lors des tests pour la détection des IgM et IgA. Après la préparation des dilutions de dépistage ou de titrage au tampon PBS, les sérums prétraités s'utilisent directement à la préparation du test

Biosorb® Absorbant de Reiter**Réf. 36-6105**: Homogénisate de Treponema phagedenis; prêt à l'emploi; 1 ml.

Après la séparation des spirochètes, la dilution finale du sérum est de 1:5.

Lors du traitement des sérums de patients par l'Absorbant de Reiter Biosorb®, les anticorps dirigés contre les antigènes spécifiques du groupe des spirochètes sont enlevés. Cet homogénisate de Treponema phagedenis peut également être utilisé à la préparation des échantillons pour tout autre test destiné à la détection des IgG en sérologie des spirochètes (borrelies, FTA-ABS, leptospires) de n'importe quel autre fournisseur.

MATERIELS ET EQUIPEMENTS AUXILIAIRES QUI NE SONT PAS FOURNIS

Tubes pour les étapes d'absorption

Pipettes de précision (intervalle 1-1000 µl)

Agitateur type „Vortex“

Bios®, Biosite®, Biognost®, Biolisa®, Biosave®, Biosorb®, Biomedix®, Bionostix®, Biostik®, Biochip®, Bioservice®, Biotainer®, Biodata®, Diagnos® und Recipe® sind registrierte Warenzeichen der Firma Bios® GmbH Labordiagnostik, Deutschland.

Die mit gekennzeichneten Warenzeichen in diesem Text sind Eigentum der Bios GmbH.

Unsere Gebrauchsinformationen sind geistiges Eigentum der Firma Bios und nur nach unseren Vorgaben zu verwenden.

Bios® GmbH Labordiagnostik, Hofmannstr. 5-7, D-81379 München,

Fon/Fax: +49 89/898895-0/40, e-mail: bios@bios-world.com, Biosite® www.bios-world.com

Tampon PBS
Chronomètre

STOCKAGE ET CONSERVATION

Les absorbants se conservent à 5-10° C. Si les recommandations de stockage sont bien respectées, les absorbants se conservent jusqu'à la date de péremption figurant sur l'emballage. N'utilisez jamais de réactifs péremptés!

INSTRUCTIONS DE SECURITE

1. Les absorbants sont exclusivement destinés au diagnostic in vitro.
2. Avant la préparation des tests, lisez attentivement la fiche technique. Pour obtenir des résultats explicites et fiables, il est indispensable de suivre strictement les instructions de la fiche technique
3. Les absorbants contiennent 0,09% d'azide de sodium. L'azide de sodium est toxique. Evitez l'avalement ainsi que tout contact avec la peau et les muqueuses! De plus, à cause du danger de la formation de substances explosives, les réactifs contenant de l'azide de sodium ne doivent pas être mis en contact avec des objets qui contiennent du cuivre et du plomb.
4. Les consignes de sécurité de la caisse de prévoyance des accidents au travail ainsi que des laboratoires des instituts en question concernant les substances toxiques, irritantes et de danger biologique sont à respecter strictement (voir les affiches, le journal du laboratoire, les instructions de sécurité ainsi que les consignes résultant de l'accréditation de l'établissement).
5. Il est recommandé de respecter les directives actuelles définies par „GBEA“ (Guide de Bonne Exécution des Analyses de Biologie Médicale).
6. Tous les sérums et matériels utilisés dans le test doivent être éliminés selon la législation en vigueur.

TRAITEMENT DES ECHANTILLONS

Le test convient à l'analyse d'échantillons de sérum ou de plasma. A 5-10° C, la conservation du sérum/plasma est de 24 à 48 heures. Pour permettre un stockage plus long ou des analyses répétées, les sérums/plasmas devront être congelés choc par portions de > 50 µl dans de l'azote liquide. Une fois congelés, les échantillons se conservent à ≤ - 20° C. Pour des portions de sérum ou de plasma plus grandes, éviter les cycles de congélation et de décongélation répétés, car ceci peut entraîner la formation d'agglomérats de protéines ainsi que la dégradation de composants du sérum/plasma. Au cas où les analyses prévues sont indifférentes à la présence d'azide (attention: ceci n'est pas le cas chez les tests ELISA de peroxidase!), le sérum/plasma se conserve également au réfrigérateur après l'adjonction de 0,09 % d'azide. Normalement, dans ces conditions, le sérum/plasma se conserve à long termes (≥ 1 an) et sans pertes d'électrolytes.

CONTROLE DE LA QUALITE ET SOURCES DE PERTURBATIONS

Evitez en tout cas d'accélérer le processus de chauffage des absorbants en utilisant des sources de chaleur.

Dans le but d'enlever les anticorps spécifiques du genre des spirochètes et d'éviter des réactions croisées, il est conseillé de traiter les échantillons par des absorbants des spirochètes du souche Reiter. Comme cette procédure provoque une augmentation de la spécificité et une diminution de la sensibilité du test, il faut comparer avec prudence les résultats des échantillons qui ont subi une absorption par l'absorbant de Reiter avec ceux qui n'ont pas été traité par des absorbants pareils!

Avant de diluer les sérums de patient pour la préparation des tests, il faut tenir compte du degré de dilution résultant de la procédure d'absorption.

La sensibilité et la spécificité des absorbants sont soumises à la vérification permanente du laboratoire de contrôle de qualité Bios®. Pour la standardisation des tests, les laboratoires Bios utilisent tous les contrôles et sérums standardisés disponibles chez l'Organisation Mondiale de Santé (OMS) ou d'autres institutions officielles.

MODE OPERATOIRE DES ABSORPTIONS

Avant chaque absorption, sortez tous les réactifs et échantillons de sérum du réfrigérateur et attendez qu'ils atteignent la température ambiante (au moins 5 min). Avant de procéder aux séparations, tournez lentement les flacons 3 à 4 fois tête dessous pour assurer que les suspensions soient bien mélangées.

Utilisation de l'Absorbant Biosorb® IgG pour l'élimination des IgG lors de la détection des IgM et IgA (par des tests d'ELISA, d'IFI, Western Blot, etc.)

1. Diluer 1:5 l'échantillon à l'Absorbant Biosorb® IgG (p. ex. 10 µl de sérum et 40 µl d'Absorbant Biosorb® IgG).
2. Mélanger la mixture soigneusement et avec précaution sur un agitateur type „Vortex“.
3. Faire incuber la mixture 10-15 min à température ambiante.
4. Dans la mixture (qui correspond à la fraction IgM et IgA), le sérum est dilué 1:5. La mixture s'utilise directement à la préparation du test ou, selon les dilutions de dépistage ou de titrage prévues, elle peut subir d'autres étapes de dilution. Il n'est pas nécessaire de séparer par centrifugation les IgG absorbés (qui, dans la mixture, sont présents comme des complexes immuns aux anticorps IgG/anti-IgG). Les réactifs ou kits nécessaires à la préparation du test principal peuvent être de provenance Bios® ou autres fabricants.

Utilisation de l'Absorbant de Reiter Biosorb® pour l'élimination des anticorps spécifiques du groupe des spirochètes lors de la détection des IgG par des tests d'ELISA, d'IFI, Western Blot, etc. (borrelies, leptospires, treponèmes)

1. Diluer 1:5 l'échantillon à l'Absorbant de Reiter Biosorb® (p. ex. 10 µl de sérum et 40 µl d'absorbant)
2. Mélanger la mixture soigneusement et avec précaution sur un agitateur type „Vortex“.
3. Faire incuber la mixture 10-15 min à température ambiante.
4. Dans la mixture, le sérum est dilué 1:5 ce qui correspond à la concentration des anticorps (surtout de la fraction IgG) dans le sérum. La mixture s'utilise directement à la préparation du test ou, selon les dilutions de dépistage ou de titrage prévues, elle peut subir d'autres étapes de dilution. Comme les anticorps anti-spirochètes responsables des réactions croisées sont absorbés et, dans la mixture, sont présents comme des complexes immuns „anticorps anti-spirochètes/spirochètes de Reiter“, il n'est pas nécessaire de les séparer par centrifugation. Les réactifs ou kits nécessaires à la préparation du test principal peuvent être de provenance Bios® ou autres fabricants.

Au cas où le sérum a déjà subi une séparation IgG/IgM (ou IgG/IgA) par l'Absorbant Biosorb® IgG, l'étape d'absorption par l'absorbant de spirochètes du souche Reiter peut également être effectuée à base de la fraction IgM (ou IgA) résultant de la première étape de séparation. Comme les IgM (et IgA) dans la fraction IgM/IgA sont déjà présents de façon dilués, il suffit dans ce cas d'utiliser une moindre quantité d'absorbant de Reiter (1 part de la fraction IgM (ou IgA) plus 1 part d'Absorbant de Reiter Biosorb®). La dilution finale du sérum résultant de ces deux étapes de séparation est de **1:10** (1: 5 plus 1:2). Avec cette mixture, l'on peut également renoncer à une centrifugation des complexes immuns formés lors des étapes de séparation et procéder directement à la préparation du test principal.

LITERATUR

1. Feldner J.: RF-Absorbens: IgM-Antikörperbestimmung ohne Rheumafaktor-Interferenz. Lab.med. 14, 1990, 283-288.
2. Hunter E.F., Deacon W.E., Meyer P.F.: An Improved Test for Syphilis, the Absorption Procedure (FTA-Abs). Publ. Health Rep. 79, 1964, 410-412.